

b) 0.65 g (0.001 Mol) *Ia* werden in einem Gemisch von 100 ccm Eisessig und 20 ccm Chloroform zum Sieden erhitzt und portionsweise mit 1 g Zinkstaub versetzt. Nachdem sich die Lösung entfärbt hat, filtriert man heiß, gibt bis zur beginnenden Trübung Wasser hinzu und kühlt auf 0° ab. Der ausgeschiedene Niederschlag wird abgesaugt und mit wenig eiskaltem Äthanol gewaschen. Ausb. 0.4 g (61% d. Th.). Gelbliches Pulver vom Schmp. 273° (Zers.).

Der Misch-Schmp. mit der nach a) dargestellten Verbindung zeigt keine Depression.

## GÜNTER LOSSE und GERHARD MÜLLER

### Über die Synthese von Histidinpeptiden

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Halle (Saale)

(Eingegangen am 4. April 1961)

Die Synthese neuer Di- und Tripeptide mit *C*- und *N*-terminalem Histidin neben Glycin, Alanin, Leucin, Phenylalanin, Serin oder einem weiteren Histidinmolekül wird beschrieben, wobei die Carbodiimid- und die Chlorid-Methode unter Anwendung des Cbo-, Benzyl-, Trityl- und Phthalyl-Restes als Schutzgruppen herangezogen wurden.

Histidinpeptide haben wegen ihrer komplexbildenden und katalytischen Eigenschaften, sowie als wichtige Bestandteile von Peptidhormonen und des aktiven Zentrums zahlreicher Fermente besonderes präparatives Interesse gewonnen.

Im Rahmen der Synthese und katalytischen Untersuchung einfacher Katalasemodelle benötigten wir eine Reihe von größtenteils noch nicht beschriebenen Di- und Tripeptiden mit *N*- und *C*-terminalem Histidin. Zu ihrer Darstellung haben wir eine Anzahl von Methoden der Peptidsynthese sowie verschiedene *N*-Schutzgruppen verwendet und ihre spezielle Eignung für den Aufbau histidinhaltiger Peptide untersucht.

Als Ausgangsstoffe zur Synthese von Peptiden mit *N*-terminalem Histidin wurden in den letzten Jahren Cbo-Histidinazid<sup>1-5)</sup>, ferner Di-Cbo-histidin<sup>6)</sup>,

1) R. W. HOLLEY und E. SONDHEIMER, J. Amer. chem. Soc. **76**, 1326 [1957].

2) R. F. FISCHER und R. R. WHETSTONE, J. Amer. chem. Soc. **76**, 5076 [1954].

3) N. C. DAVIS, J. biol. Chemistry **223**, 935 [1956].

4) F. SCHNEIDER, Hoppe-Seyler's, Z. physiol. Chem. **320**, 82 [1960].

5) F. SCHNEIDER, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **321**, 38 [1960].

6) A. PATCHORNIK, A. BERGER und E. KATCHALSKI, J. Amer. chem. Soc. **79**, 6416 [1957]; F. SAKIYAMA, K. OKAWA, T. YAMANAKA und S. AKABORI, Bull. chem. Soc. Japan **31**, 926 [1958]; D. F. ELLIOT und D. MORRIS, Chimia [Zürich] **14**, 373 [1960].

$N^\alpha$ -Cbo- $N(Im)$ -Bz-Histidin<sup>7-11)</sup> sowie Ditritylhistidin<sup>12-14)</sup> und deren Derivate herangezogen.

Da die zuerst genannten zwei Synthesen Nebenreaktionen am Imidazolring (z. B. Kupplungsreaktionen bzw. Abspaltung eines Cbo-Restes) nicht absolut ausschließen, haben wir zur Herstellung von Peptiden mit aminoendständigem Histidin ausschließlich  $N^\alpha$ -Cbo- $N(Im)$ -Bz-L-Histidin und Ditrityl-L-histidin verwendet.

$N^\alpha$ -Cbo- $N(Im)$ -Bz-L-Histidin wurde nach der Carbodiimid-Methode<sup>15)</sup> mit Aminosäure- bzw. Peptidestern in Pyridin oder Dimethylformamid umgesetzt, wobei die entsprechenden Peptidderivate mit guter Ausbeute und Reinheit entstanden. Durch Verseifung mit methanolischer Natronlauge wurden die freien Peptidderivate erhalten, die nach der Carbodiimid-Methode zum Aufbau höherer Peptide verwendet oder durch energische katalytische Hydrierung<sup>11,16)</sup> von ihren Schutzgruppen befreit werden können.

Ditrityl-L-histidin, das durch Umsetzung von L-Histidin-methylester mit Tritylchlorid und anschließende Verseifung erhältlich ist<sup>17,18)</sup>, ließ sich nach der Carbodiimid-Methode mit Aminosäureestern auch in guter Ausbeute kuppeln. Die Verseifung der gebildeten Ditrityl-peptidester und Abspaltung der Tritylreste im sauren Medium führte glatt zu den entsprechenden freien Peptiden. Die Ditrityl-peptide eignen sich gut zum Aufbau von größeren Histidinpeptiden.

Bei der Synthese von Peptiden mit C-terminalem Histidin aus Cbo-Aminosäuren oder -Peptiden und Histidin-methylester brachte die Carbodiimid-Methode ebenfalls gute Ergebnisse. Histidinpeptide dieses Typs können ferner aus Chloriden von Phthalyl-aminosäuren oder -peptiden und Histidin dargestellt werden<sup>19)</sup>. Diese Reaktion scheiterte allerdings mit den Phthalylderivaten von L-Valin, L-Leucin und DL-Valylglycin, deren Säurechloride in dem wäßrigen alkalischen Medium zu schnell hydrolysieren.

Die Methode der aktivierten Ester führte bei Versuchen zur Herstellung von Peptiden mit C-terminalem Histidin zu Komplikationen. — In alkalischer Methanol/

7) D. THEODOROPOULOS, J. org. Chemistry **21**, 1550 [1956].

8) D. THEODOROPOULOS, Acta chem. scand. **12**, 1955 [1958].

9) D. THEODOROPOULOS, Acta chem. scand. **12**, 2043 [1958].

10) A. PATCHORNIK, A. BERGER und A. KATCHALSKI, J. Amer. chem. Soc. **79**, 5227 [1957]; W. LAUTSCH und Mitarbb., Kolloid-Z. **161**, 36 [1958]; Chimia [Zürich] **13**, 129 [1959]; C. H. LI und E. SCHNABEL, Nature [London] **189**, 143 [1961]; D. THEODOROPOULOS und J. GAZOPOULOS, J. chem. Soc. [London] **1960**, 3861.

11) C. H. LI, E. SCHNABEL und D. CHUNG, J. Amer. chem. Soc. **82**, 2062 [1960].

12) G. AMIARD, R. HEYMES und L. VELLUZ, Bull. Soc. chim. France **1955**, 1464; Engl. Pat. 820 789; C. A. **54**, 14146e [1960].

13) R. A. BOISSONNAS, ST. GUTTMANN, J. P. WALLER und P. A. JAQUENOU, Experientia [Basel] **12**, 446 [1956]; R. A. BOISSONNAS, ST. GUTTMANN, R. L. HUGUENIN, P. A. JAQUENOU und E. SANDRIN, Helv. chim. Acta **41**, 1873 [1958].

14) ST. GUTTMANN und R. A. BOISSONNAS, Helv. chim. Acta **42**, 1258 [1959].

15) J. C. SHEEHAN und G. P. HESS, J. Amer. chem. Soc. **77**, 1067 [1955]; H. G. KHORANA, Chem. and Ind. **1955**, 1087.

16) E. BRICAS und C. NICOT-GUTTON, Bull. Soc. chim. France **1960**, 466; vgl. R. C. JONES, J. Amer. chem. Soc. **71**, 383 [1949].

17) G. AMIARD, R. HEYMES und L. VELLUZ, Bull. Soc. chim. France **1955**, 191.

18) G. C. STALAKATOS, D. THEODOROPOULOS und L. ZERVAS, J. Amer. chem. Soc. **81**, 2884 [1959].

19) R. A. TURNER, J. Amer. chem. Soc. **75**, 2388 [1953].

Wasser-Lösung wurden Cbo-Aminosäure-thiophenylester unter Erwärmung mit Histidin umgesetzt. Unter dem katalytischen Einfluß der Imidazolgruppe<sup>20)</sup> trat dabei Hydrolyse der Thiophenylester ein.

Tab. 1. Peptide und Derivate mit *N*-terminalem Histidin nach der Carbodiimid-Methode

Nr.	Verbindung	Ausgangsmaterial	Krist.	Ausb. %
1 a	<i>N</i> α-Cbo- <i>N</i> ( <i>Im</i> )-Bz-L-His-Gly-Et	<i>N</i> α-Cbo- <i>N</i> ( <i>Im</i> )-Bz-L-His	+	72
1 b	<i>N</i> α-Cbo- <i>N</i> ( <i>Im</i> )-Bz-L-His-Gly		+	80
1 c	L-His-Gly		+	65
2 a	<i>N</i> α-Cbo- <i>N</i> ( <i>Im</i> )-Bz-L-His-L-Leu-Me	<i>N</i> α-Cbo- <i>N</i> ( <i>Im</i> )-Bz-L-His	+	80
2 b	<i>N</i> α-Cbo- <i>N</i> ( <i>Im</i> )-Bz-L-His-L-Leu		+	82
2 c	L-His-L-Leu		+	60
3 a	<i>N</i> α-Cbo- <i>N</i> ( <i>Im</i> )-Bz-L-His-Gly-Gly-Et	<i>N</i> α-Cbo- <i>N</i> ( <i>Im</i> )-Bz-L-His	—	60
3 b	<i>N</i> α-Cbo- <i>N</i> ( <i>Im</i> )-Bz-L-His-Gly-Gly		+	71
4 a	Di-Tr-L-His-Gly-Et	Di-Tr-L-His	—	91
4 b	Di-Tr-L-His-Gly		+	80
4 c	L-His-Gly		+	85
5 a	Di-Tr-L-His-L-Leu-Me	Di-Tr-L-His	—	91
5 b	Di-Tr-L-His-L-Leu		—	90
5 c	L-His-L-Leu		+	85
6 a	Di-Tr-L-His-L-Phe-Et	Di-Tr-L-His	—	80
6 b	Di-Tr-L-His-L-Phe		+	85
6 c	L-His-L-Phe		+	91
7 a	Di-Tr-L-His-L-Ser-Me	Di-Tr-L-His	+	85
7 b	Di-Tr-L-His-L-Ser		+	82
7 c	L-His-L-Ser		+	92
8 a	Di-Tr-L-His-L-His-Me	Di-Tr-L-His	—	40
8 b	Di-Tr-L-His-L-His		+	65
9 a	Di-Tr-L-His-Gly-L-His-Me	Di-Tr-L-His-Gly	—	83
9 b	Di-Tr-L-His-Gly-L-His		+	87
9 c	L-His-Gly-L-His		+	85

Tab. 2. Peptide und Derivate mit *C*-terminalem Histidin, 10a—13a nach der Carbodiimid-, 14a—17b nach der Chlorid-Methode

10 a	Cbo-DL-Leu-DL-His-Me	Cbo-DL-Leu	—	85—90
10 b	Cbo-DL-Leu-DL-His		+	86
10 c	DL-Leu-DL-His		+	92
11 a	Cbo-Gly-Gly-L-His-Me	Cbo-Gly-Gly	+	86
11 b	Cbo-Gly-Gly-L-His		—	90
11 c	Gly-Gly-L-His		+	91
12 a	Cbo-DL-Phe-DL-His-Me	Cbo-DL-Phe	+	86
12 b	Cbo-DL-Phe-DL-His		+	92
12 c	DL-Phe-DL-His		+	89
13 a	Cbo-L-Phe-L-His-Me	Cbo-L-Phe	+	74
13 b	Cbo-L-Phe-L-His		+	86
14 a	Phth-Gly-L-His	Phth-Gly	+	55
14 b	Gly-L-His		+	60
15 a	Phth-β-Ala-L-His	Phth-β-Ala	+	69
15 b	β-Ala-L-His		+	85
16 a	Phth-DL-Ala-DL-His	Phth-DL-Ala	+	35
16 b	DL-Ala-DL-His		+	87
17 a	Phth-Gly-Gly-L-His	Phth-Gly-Gly	+	52
17 b	Gly-Gly-L-His · N <sub>2</sub> H <sub>4</sub>		+	85

Abkürzungen: Bz: Benzyl; Cbo: Carbobenzoxy; Et: Äthylester; Me: Methyl ester; Phth: Phthalyl; Tr: Trityl; Krist.: Kristallisation.

<sup>20)</sup> V. FRANZEN, Angew. Chem. 72, 139 [1960]; M. C. BENDER und B. W. TURNQUEST, J. Amer. chem. Soc. 79, 1656 [1957].

## BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Schmelzpunkte nach KOFLER (korr.); die angegebenen Ausbeuten beziehen sich auf umkristallisierte Substanzen.

Die Cbo-Aminosäuren und Aminosäureester-hydrochloride wurden nach bekannten Methoden dargestellt. Die Freisetzung der Aminosäureester erfolgte mit Ammoniak in absol. Chloroform oder Äther<sup>21)</sup>.

1. *DL-Histidin·HCl*<sup>22)</sup>: Eine konz. wäbr. Lösung von *L*-Histidin·HCl wird 3 Stdn. im Bombenrohr auf 160–170° erhitzt. Die schwach gelbe Lösung wird mit der doppelten Menge absol. Äthanol versetzt. Ausb. 90–95% d. Th.

2. *L-Histidin-methylester·2 HCl*<sup>3)</sup>: Schmp. 199–200°.

3. *DL-Histidin-methylester·2 HCl* wurde analog der *L*-Verbindung dargestellt. Schmp. 150–152° (aus Methanol/Äther).

Die hergestellten Peptide wurden papierchromatographisch in Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:1) auf ihre Reinheit geprüft.

A. Synthesen über *N(Im)-Bz-Histidinpeptide*

*N(Im)-Bz-L-Histidin*<sup>23)</sup>: *L*-Histidin wird in flüss. Ammoniak benzyliert und aus 70-proz. Äthanol sowie aus Wasser umkristallisiert. Ausb. 60–70% d. Th., Schmp. 248–249°.  $[\alpha]_D^{20}$ : +12.2° ( $c = 2$ , in Wasser + 1 Äquiv. HCl).

*N<sup>α</sup>-Cbo-N(Im)-Bz-L-Histidin*<sup>24)</sup>: *N(Im)-Bz-L-Histidin* wird mit *Cbo-Chlorid* umgesetzt. Nach der Reaktion wird Wasser zu der Mischung gegeben, mit Essigsäure angesäuert, der Niederschlag abgesaugt und mit Wasser, Essigester und Äther gewaschen. Das Rohprodukt wird aus Dimethylformamid/Äther, Pyridin oder *n*-Butanol umkristallisiert. Ausb. 70% d. Th., Nadeln, Schmp. 213–216°.  $[\alpha]_D^{20}$ : –17.0° ( $c = 2$ , in *n* HCl).

1 a. *N<sup>α</sup>-Cbo-N(Im)-Bz-L-Histidyl-glycin-äthylester*: 5.62 g (0.15 Mol) *N<sup>α</sup>-Cbo-N(Im)-Bz-L-Histidin* u. 1.55 g *Glycin-äthylester* werden in 180ccm Pyridin bei –10° mit 3.5 g Dicyclohexylcarbodiimid versetzt. Die Mischung wird 3 Stdn. bei dieser Temperatur gerührt, dann über Nacht bei Raumtemperatur. Hierauf wird i. Vak. eingedampft und die Destillation nach Zugabe von Essigester wiederholt. Der Rückstand wird in Essigester aufgenommen, mit einigen ccm Eisessig versetzt und einige Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen. Nach Absaugen des Dicyclohexylharnstoffes wird die Lösung mit Wasser sowie gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Hierauf wird i. Vak. auf ein kleines Vol. eingedampft und mit Äther versetzt. Nadeln aus Essigester/Äther. Ausb. 5 g (72% d. Th.), Schmp. 120–121° (Lit.<sup>16)</sup>: 121–122.5°).

$C_{25}H_{28}N_4O_5$  (464.5) Ber. C 64.63 H 6.07 N 12.06 Gef. C 64.68 H 6.30 N 12.27

1 b. *N<sup>α</sup>-Cbo-N(Im)-Bz-L-Histidyl-glycin*: 1 a wird mit *n* NaOH in Methanol verseift. Das Rohprodukt wird aus Propanol-(1)/Äther umkristallisiert. Ausb. 80% d. Th., Schmp. 216 bis 217° (Zers.).  $[\alpha]_D^{20}$ : –5.5° ( $c = 2$ , in Eisessig). [Lit.: Schmp. 235–240°,  $[\alpha]_D^{20}$ : –5.5° ( $c = 2.1$ , in Eisessig)<sup>8)</sup>; Schmp. 216–217.5°,  $[\alpha]_D^{21}$ : –5.7 ± 1° ( $c = 1.9$ , in Eisessig)<sup>16)</sup>].

$C_{23}H_{24}N_4O_5$  (436.5) Ber. C 63.24 H 5.53 N 12.82 Gef. C 63.60 H 5.58 N 12.99

1 c. *L-Histidyl-glycin·HCl·1/2 H<sub>2</sub>O*: Die Benzylverbindung wird in 80-proz. Eisessig bei 50–60° mit Palladiumschwarz hydriert. Ausb. 65% d. Th., Schmp. 216–217° (Zers.) [Lit.: 217.5–218° (Zers.)<sup>14)</sup> und 229–230°<sup>3)</sup>].

21) G. HILLMANN, Z. Naturforsch. 1, 682 [1946].

22) R. DUSCHINSKY, Plaqueette jubilaire Emile Barel (Basel 1936), 375.

23) V. DU VIGNEAUD und O. K. BEHRENS, J. biol. Chemistry 117, 27 [1937].

24) B. G. OVERELL und V. PETROW, J. chem. Soc. [London] 1955, 236.

2a. *N<sup>α</sup>-Cbo-N(Im)-Bz-L-Histidyl-L-leucin-methylester*: 12 mMol *L-Leucin-methylester-HCl*<sup>25)</sup> werden mit ammoniakal. Äther in den freien Ester übergeführt und wie beim Glycin-derivat beschrieben mit 10 mMol *N<sup>α</sup>-Cbo-N(Im)-Bz-L-Histidin* kondensiert. Ausb. 80% d. Th. Nadeln (aus Essigester/Petroläther), Schmp. 124–126°.  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-15.20^\circ$  ( $c = 3$ , in Eisessig) [Lit.<sup>16)</sup>: Schmp. 113–113.5°,  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-13.6 \pm 0.75^\circ$  ( $c = 3.2$ , in Eisessig)].

$C_{28}H_{34}N_4O_5$  (506.6) Ber. C 66.38 H 6.77 N 11.06 Gef. C 66.48 H 6.95 N 11.21

2b. *N<sup>α</sup>-Cbo-N(Im)-Bz-L-Histidyl-L-leucin*: Aus dem Peptidester mit methanol. *n* NaOH. Ausb. 82% d. Th., Nadeln aus Pyridin/Äther, Schmp. 190–192° (Zers.).

$C_{27}H_{32}N_4O_5$  (492.6) Ber. C 65.83 H 6.55 N 11.38 Gef. C 65.50 H 6.78 N 11.65

2c. *L-Histidyl-L-leucin* wird wie Glycyl-L-histidin durch 8stdg. Hydrierung mit Palladiumkohle in Eisessig bei 60° erhalten. Ausb. 60% d. Th., Schmp. 217–220°.  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-43.0^\circ$  ( $c = 1$ , in 0.1 *n* NaOH). [Lit.: Schmp. 214–217° (Zers.),  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-43.5^\circ$  ( $c = 1$ , in 0.1 *n* NaOH)<sup>1)</sup>; Schmp. 220–222° (Zers.),  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-45.2^\circ$  ( $c = 1$ , in 0.1 *n* NaOH)<sup>2)</sup>; Schmp. 245° (Zers.),  $[\alpha]_D$ :  $-41.5 \pm 1^\circ$  ( $c = 1$ , in 0.1 *n* NaOH)<sup>12)</sup>].

$C_{12}H_{20}N_4O_3$  (268.3) Ber. N 20.88 Gef. N 20.77

3a. *N<sup>α</sup>-Cbo-N(Im)-Bz-L-Histidyl-glycyl-glycin-äthylester*: *Cbo-Glycyl-glycin-äthylester* wird mit HBr/Eisessig in *Glycyl-glycin-äthylester-HBr* übergeführt. Ausb. 91% d. Th.<sup>26)</sup>. 12 mMol *Glycyl-glycin-äthylester-HBr* werden mit ammoniakal. Chloroform freigesetzt und mit 10 mMol *N<sup>α</sup>-Cbo-N(Im)-Bz-L-Histidin*, wie unter 1a. beschrieben, kondensiert. Der Peptidester wird in einer Ausbeute von etwa 60% d. Th. als Öl erhalten.

3b. *N<sup>α</sup>-Cbo-N(Im)-Bz-L-Histidyl-glycyl-glycin*: 3a. wird mit methanol. Natronlauge verseift. Ausb. 71% d. Th., Nadeln aus Essigester/Äther, Schmp. 93–96°.

$C_{25}H_{27}N_5O_6$  (493.5) Ber. C 60.84 H 5.52 N 14.19 Gef. C 60.53 H 5.67 N 13.80

### B. Synthesen mit der Trityl-Methode

*Ditryl-L-histidin*: Aus *L-Histidin-methylester* und frisch aus Acetylchlorid umkrist. *Tritylchlorid* in absol. Chloroform bei Gegenwart von Triäthylamin und Verseifen mit einer 20-proz. Lösung von KOH in Propylenglykol. Das Rohprodukt bildet, mit Äthanol zum Sieden erhitzt, nach Erkalten abgesaugt und mit Äthanol sowie Äther gewaschen, Prismen vom Schmp. 182–184°, die nach Umkristallisieren aus Dichlormethan/Äther bei 189–190° schmelzen.  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+5.5^\circ$  ( $c = 5$ , in Pyridin),  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+7.5^\circ$  ( $c = 1$ , in Chloroform). Nochmaliges Umkristallisieren verbessert die Reinheit des Produktes nicht mehr. Ausb. 70–80% d. Th. [Lit.: Schmp. 184–185°,  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+9.6 \pm 0.1^\circ$  ( $c = 1$ , in Chloroform)<sup>17)</sup>; Schmp. 198–200°,  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+3.7^\circ$  ( $c = 5$ , in Pyridin)<sup>18)</sup>].

*Allgemeine Darstellung der Dipeptide*<sup>12)</sup>: 10 mMol *Ditryl-L-histidin* (6.4 g) und 11 mMol Aminosäureester werden in 50–60 ccm Dichlormethan bei  $-10^\circ$  mit 10 mMol (2.1 g) Dicyclohexylcarbodiimid versetzt. Nach 3 Stdn. Rühren bei Temperaturen unter  $0^\circ$  wird noch über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und wie üblich aufgearbeitet. Der Peptidester wird in Methanol oder Aceton mit 12 ccm *n* NaOH verseift. Nach Abdampfen des Lösungsmittels i. Vak. werden zum Rückstand 50 ccm Wasser gegeben. Unter Kühlung wird mit verd. Essigsäure angesäuert und das Tritylpeptid in Chloroform aufgenommen. Nach Waschen mit Wasser u. Trocknen über Natriumsulfat dampft man i. Vak. ein. Die Tritylgruppen werden mit 30 ccm 50-proz. Essigsäure oder wasserhaltiger Äthanol. Salzsäure durch 30 Min. langes Erhitzen auf dem Wasserbad abgespalten. Man versetzt die Mischung hierauf mit Wasser,

<sup>25)</sup> M. BRENNER und W. HUBER, *Helv. chim. Acta* **36**, 1109 [1953].

<sup>26)</sup> H. J. PANNEMAN, A. F. MARX und J. F. ARENS, *Recueil Trav. chim. Pays-Bas* **78**, 487 [1959].

kühlt und saugt das Triphenylcarbinol ab. Das Filtrat wird mit Chloroform ausgeschüttelt, mit A-Kohle geklärt und i. Vak. eingedampft. Die Destillation wird mehrmals mit Wasser, schließlich mit Äthanol wiederholt. Das Peptid wird aus wasserhaltigem Alkohol durch Zusatz von Aceton oder Äther umkristallisiert und i. Vak. über  $P_2O_5$  bei  $60^\circ$  getrocknet. Die Peptidacetate bzw. -hydrochloride können mit Anionenaustauschern in die freien Peptide übergeführt werden.

*L-Histidyl-glycin*<sup>12)</sup> (vgl. 1 c).

4a. *Ditrityl-L-histidyl-glycin-äthylester*: Aus *Glycin-äthylester* und *Ditrityl-L-histidin*. Ausb. 91% d. Th.

4b. *Ditrityl-L-histidyl-L-glycin* wird durch Verseifen vorstehender Verbindung gewonnen. Ausb. 80% d. Th., Schmp.  $155-160^\circ$ .

4c. *L-Histidyl-glycin*: Ausb. 85% d. Th., Schmp.  $175-180^\circ$ ,  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+24.6^\circ$  ( $c = 1$ , in Wasser). [Lit.<sup>12)</sup>: Schmp.  $190^\circ$ ,  $[\alpha]_D$ :  $+25 \pm 1^\circ$  ( $c = 2$ , in Wasser)].

*L-Histidyl-L-leucin*<sup>12)</sup> (vgl. 2 c).

5a. *Ditrityl-L-histidyl-L-leucin-methylester* erhält man aus *L-Leucin-methylester* und *Ditrityl-L-histidin* als farbloses Öl, Ausb. 91% d. Th.

5b. *Ditrityl-L-histidyl-L-leucin*: Durch Verseifen vorstehender Verbindung. Ausb. 90% d. Th.

5c. *L-Histidyl-L-leucin*: Ausb. 85% d. Th., Schmp.  $217-220^\circ$ .  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-41.8^\circ$  ( $c = 1$ , in 0.1 *n* NaOH).

*L-Histidyl-L-phenylalanin*

6a. *Ditrityl-L-histidyl-L-phenylalanin-äthylester*: Aus *Ditrityl-L-histidin* und *L-Phenylalanin-äthylester* als Öl. Ausb. ca. 80% d. Th.

6b. *Ditrityl-L-histidyl-L-phenylalanin*: 6a wird mit *n* NaOH in Aceton verseift und mit *n* HCl neutralisiert. Ausb. 85% d. Th., Schmp.  $150-154^\circ$  (Zers.). [Lit.<sup>13)</sup>:  $120^\circ$  (Zers.) bzw.  $154^\circ$  (Zers.)].

6c. *L-Histidyl-L-phenylalanin*: Die Tritylgruppen werden mit äthanol. Salzsäure abgespalten. Ausb. 91% d. Th., Schmp.  $214-215^\circ$  (Zers.). [Lit.<sup>3)</sup>:  $193-194^\circ$  für das Hydrat].

$C_{15}H_{18}N_4O_3 \cdot HCl$  (338.8) Ber. C 53.18 H 5.62 N 16.54 Gef. C 53.58 H 5.89 N 16.60

Das Hydrochlorid wird mit einem Anionenaustauscher in das freie Peptid übergeführt. Schmp.  $250-252^\circ$  (Zers.),  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+32.9^\circ$  ( $c = 2.5$ , in *n* HCl) [Lit.<sup>27)</sup>: Schmp.  $255-258^\circ$  (Zers.),  $[\alpha]_D^{27}$ :  $+33.8^\circ$  ( $c = 2.6$ , in *n* HCl)].

$C_{15}H_{18}N_4O_3$  (302.3) Ber. C 59.59 H 6.00 N 18.53 Gef. C 59.09 H 5.89 N 18.60

*L-Histidyl-L-serin*

7a. *Ditrityl-L-histidyl-L-serin-methylester*: Aus *Ditrityl-L-histidin* und *L-Serin-methylester*<sup>28)</sup>. Ausb. 85% d. Th. Blättchen aus Alkohol/Äther, Schmp.  $227-228^\circ$ , schwerlöslich in Essigester.

7b. *Ditrityl-L-histidyl-L-serin*: 7a wird mit *n* NaOH in Methanol 10 Min. unter Rückfluß erhitzt. Das Rohprodukt wird aus Dichlormethan/Äther umkristallisiert. Ausb. 82% d. Th., Schmp.  $154-156^\circ$  (Zers.).

$C_{47}H_{42}N_4O_4 \cdot HCl$  (763.4) Ber. C 73.95 H 5.68 N 7.37 Gef. C 74.10 H 5.82 N 7.42

<sup>27)</sup> K. HOFMANN, H. KAPPELER, A. E. FURLENMEIER, M. E. WOONER, E. T. SCHWARTZ und T. A. THOMPSON, J. Amer. chem. Soc. **79**, 1641 [1957].

<sup>28)</sup> ST. GUTTMANN und R. A. BOISSONNAS, Helv. chim. Acta **41**, 1858 [1958].

7c. *L-Histidyl-L-serin*: Aus der Tritylverbindung mit 50-proz. Essigsäure. Ausb. 92% d. Th. Prismen vom Schmp. 120–130° (unter langsamem Erweichen),  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-11.5^\circ$  ( $c = 1$ , in 0.1 *n* NaOH).

$C_9H_{14}N_4O_4 \cdot CH_3CO_2H$  (302.3) Ber. C 43.70 H 6.01 N 18.54 Gef. C 43.67 H 5.99 N 18.63

Das freie Peptid schmilzt bei 138–141° (Lit.<sup>4)</sup>: 140–142°.

$C_9H_{14}N_4O_4$  (242.2) Ber. N 23.13 Gef. N 23.61

*Ditrityl-L-histidyl-L-histidin*

8a. *Ditrityl-L-histidyl-L-histidin-methylester*: Aus *Ditrityl-L-histidin* und *L-Histidin-methylester*. Der farblose, ölige Peptidester wird in einer Ausb. von ca. 40% d. Th. erhalten.

8b. *Ditrityl-L-histidyl-L-histidin*: 8a wird mit 20-proz. methanol. Kalilauge 5 Min. zum Sieden erhitzt. Die Mischung wird hierauf mit Wasser und unter Kühlung mit *n* HCl bis zur schwach sauren Reaktion versetzt. Der Niederschlag wird in Chloroform aufgenommen, die Lösung über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wird aus Benzol/Äther umkristallisiert. Ausb. 65% d. Th. Löslich in Alkoholen, Benzol, Tetrahydrofuran. Schwerlöslich in Essigester. Unlöslich in Äther und Petroläther.

$C_{50}H_{44}N_6O_3 \cdot HCl \cdot H_2O$  (831.4) Ber. C 72.23 H 5.58 N 10.11 Gef. C 72.01 H 5.82 N 10.23

*L-Histidyl-glycyl-L-histidin*

9a. *Ditrityl-L-histidyl-glycyl-L-histidin-methylester*: Aus *Ditrityl-L-histidyl-glycin* (4b) und *L-Histidin-methylester* in Tetrahydrofuran erhält man den öligen Peptidester in einer Ausb. von ca. 83% d. Th.

9b. *Ditrityl-L-histidyl-glycyl-L-histidin*: Der Methylester wird in Aceton mit *n* NaOH verseift. Nach Ansäuern mit *n* HCl, Abdampfen des Acetons und Zugabe von Wasser wird das Verseifungsprodukt mit Dichlormethan ausgeschüttelt. Nach Trocknen und Eindampfen der Lösung wird der Rückstand mit Äther kurz unter Rückfluß erhitzt und nach Erkalten abgeseigt. Das Rohprodukt wird aus Dichlormethan/Äther umkristallisiert. Ausb. 87% d. Th.; Schmp. 185–190°,  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-11.0^\circ$  ( $c = 2$ , in Dichlormethan).

$C_{52}H_{47}N_7O_4 \cdot HCl$  (870.5) Ber. C 71.75 H 5.56 N 11.26 Gef. C 71.63 H 5.73 N 11.20

9c. *L-Histidyl-glycyl-L-histidin*: Das Tritylpeptid wird mit verd. Essigsäure in das Peptidacetat übergeführt, das aus Methanol/Äther umkristallisiert wird. Ausb. 85% d. Th.; Schmp. 145–160° unter langsamem Erweichen.  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-5.3^\circ$  ( $c = 2$ , in 0.1 *n* HCl).

$C_{14}H_{19}N_7O_4 \cdot 2 CH_3CO_2H$  (469.4) Ber. C 46.06 H 5.80 N 20.89

Gef. C 46.35 H 6.07 N 20.82

Das freie Peptid zersetzt sich bei 235–240°.

$C_{14}H_{19}N_7O_4$  (349.4) Ber. N 28.07 Gef. N 27.98

**C. Synthesen von Peptiden mit C-terminalem Histidin durch Dicyclohexylcarbodiimid**

Die Cbo-Aminosäuren bzw. -Peptide werden mit Histidin-methylester in Tetrahydrofuran durch Dicyclohexylcarbodiimid bei etwa  $-5$  bis  $-10^\circ$  gekuppelt, um möglichst weitgehend Nebenreaktionen des Imidazolrestes und Bildung *N*-substituierter *N,N'*-Dicyclohexylharnstoffe<sup>29)</sup> auszuschließen. Die Ansätze werden wie gewöhnlich<sup>15)</sup> nach Stehenlassen über Nacht bei Raumtemperatur aufgearbeitet. Die Peptidester werden in Methanol mit *n* NaOH verseift und die Cbo-Gruppen durch Hydrierung mit PtO<sub>2</sub> oder Pd-Kohle in Eisessig abgespalten.

*DL-Leucyl-DL-histidin*

10a. *Cbo-DL-Leucyl-DL-histidin-methylester* wird aus *Cbo-DL-leucin* und *DL-Histidin-methylester* als Öl erhalten. Ausb. 85–90% d. Th.

<sup>29)</sup> B. HELFERICH und H. BÖSHAGEN, Chem. Ber. 92, 2813 [1959].

10b. *Cbo-DL-leucyl-DL-histidin*: Vorstehender Peptidester wird verseift und das durch Ansäuern mit *n* HCl erhaltene Rohprodukt aus Propanol-(1)/Isopropyläther umkristallisiert. Ausb. 86% d. Th., Schmp. 126–128°.

$C_{20}H_{26}N_4O_5 \cdot HCl$  (438.7) Ber. C 54.71 H 6.20 N 12.77 Gef. C 54.95 H 6.49 N 13.20

10c. *DL-Leucyl-DL-histidin*: Das Cbo-Derivat 10b wird mit Pd-Kohle in verd. Eisessig hydriert, aus wäbr. Propanol-(1)/Äther umkristallisiert und bei 60° i. Vak. getrocknet. Ausb. 92% d. Th.

$C_{12}H_{19}N_4O_3 \cdot CH_3CO_2H$  (327.7) Ber. N 17.12 Gef. N 17.10

#### *Glycyl-glycyl-L-histidin*

11a. *Cbo-Glycyl-glycyl-L-histidin-methylester*: Aus *Cbo-Glycyl-glycin*<sup>30)</sup> und *L-Histidin-methylester* in Dimethylformamid. Schmp. 189–190° (aus Propanol-(1)/Äther). Ausb. 86% d. Th., bezogen auf das Semihydrat. Schwer löslich in Essigester und Dichlormethan.

$C_{19}H_{22}N_5O_6$  (416.4) Ber. C 54.80 H 5.33 N 16.82

$C_{19}H_{22}N_5O_6 \cdot \frac{1}{2} H_2O$  (425.4) Ber. C 53.64 H 5.69 N 16.46 Gef. C 53.78 H 5.77 N 16.54

11b. *Cbo-Glycyl-glycyl-L-histidin*: Das nach dem Verseifen des Methylesters und Ansäuern mit *n* HCl erhaltene Hydrochlorid wird nach Umfällen aus Propanol-(1)/Äther gleich weiterverarbeitet. Ausb. etwa 90% d. Th.

11c. *Glycyl-glycyl-L-histidin*: Die Cbo-Verbindung wird mit Pd-Kohle in Eisessig hydriert, das hygroscopische Peptidacetat aus wasserhaltigem Äthanol/Äther umkristallisiert und i. Vak. bei 60° getrocknet. Ausb. 91% d. Th. (bezogen auf das Monoacetat). Schmilzt ab 130° unter langsamem Erweichen.  $[\alpha]_D^{25}$ : +16.0° (*c* = 2, in Wasser).

$C_{10}H_{15}N_5O_4 \cdot CH_3CO_2H$  (329.3) Ber. C 43.77 H 5.82 N 21.27

$C_{10}H_{15}N_5O_4 \cdot CH_3CO_2H \cdot H_2O$  (347.3) Ber. C 41.50 H 6.09 N 20.17

$C_{10}H_{15}N_5O_4 \cdot 2 CH_3CO_2H$  (389.4) Ber. C 43.19 H 5.95 N 17.99

Gef. C 44.45 H 5.28 N 18.11

Das Peptidacetat wird mit einem Anionenaustauscher in das freie Peptid übergeführt. Zers. ab 210°.

$C_{10}H_{15}N_5O_4$  (264.4) Ber. N 26.51 Gef. N 26.48

#### *DL-Phenylalanyl-DL-histidin*

12a. *Cbo-DL-Phenylalanyl-DL-histidin-methylester*: Aus *Cbo-DL-Phenylalanin* und *DL-Histidin-methylester*. Der ölige Ester wird nach Umfällen aus Essigester/Petroläther mit Tetrachlorkohlenstoff erhitzt. Nach Erkalten bilden sich Kristalle, die aus Dichlormethan/Tetrachlorkohlenstoff umkristallisiert werden. Ausb. 86% d. Th.; Schmp. 84–86°.

$C_{24}H_{26}N_4O_5$  (450.5) Ber. N 12.44 Gef. N 12.49

12b. *Cbo-DL-Phenylalanyl-DL-histidin*: Aus dem Methylester mit *n* NaOH in Methanol. Schmp. 183–185° (aus heißem Wasser). Ausb. 92% d. Th., unlöslich in Äther.

$C_{23}H_{24}N_4O_5$  (436.5) Ber. C 63.29 H 5.54 N 12.84 Gef. C 63.02 H 5.82 N 12.78

12c. *DL-Phenylalanyl-DL-histidin*: Die Cbo-Verbindung wird mit PtO<sub>2</sub> in Eisessig hydriert. Ausb. 89% d. Th. Schmilzt ab 130° und zersetzt sich bei 170–175°.

$C_{15}H_{18}N_4O_3 \cdot CH_3CO_2H$  (362.4) Ber. C 56.34 H 6.12 N 15.46 Gef. C 56.73 H 5.93 N 15.45

#### *Cbo-L-Phenylalanyl-L-histidin*

13a. *Cbo-L-Phenylalanyl-L-histidin-methylester*: Aus *Cbo-L-Phenylalanin* und *L-Histidin-methylester*. Schmp. 155–160° (aus Dichlormethan/Petroläther). Ausb. 74% d. Th.

$C_{24}H_{26}N_4O_5$  (450.5) Ber. N 12.44 Gef. N 12.58

<sup>30)</sup> ST. GOLDSCHMIDT und H. LAUTENSCHLAGER, Liebigs Ann. Chem. 580, 68 [1953].

13b. *Cbo-L-Phenylalanyl-L-histidin*: Das durch Verseifen des Methylesters erhaltene Cbo-Peptid wird aus heißem Wasser und aus Äthanol/Äther umkristallisiert. Ausb. 86% d. Th. Schmp. 205–207° (Lit.<sup>31</sup>): 198–200°.

$C_{23}H_{24}N_4O_5$  (436.5) Ber. N 12.84 Gef. N 12.89

#### D. Synthesen mit der Phthalyl-Methode

1. *Phthalylaminosäuren und -peptide*: Aus den betreffenden Aminosäuren durch Schmelzen mit Phthalsäure-anhydrid bei 160–170° oder Umsetzen mit *N*-Carbäthoxy-phthalimid<sup>32</sup>).

*N*-Carbäthoxy-phthalimid: Zu 72.5 g *Phthalsäure-anhydrid* in 250 ccm trockenem Dimethylformamid und 70 ccm Triäthylamin läßt man unter Rühren und Eiskühlung 50 ccm *Chlorameisensäure-äthylester* im Verlauf einer Stunde zutropfen. Nach weiterem 2stdg. Rühren bei Raumtemperatur wird die Mischung in 1.5 l Wasser gegossen. Das erhaltene Produkt schmilzt nach Waschen mit Wasser bei 84–85°. Ein einmaliges Umkristallisieren aus Äthanol unter Zusatz von etwas A-Kohle liefert 88 g farblose Kristalle (80% d. Th.) vom Schmp. 89°, die bei 80° erweichen und sich in Nadeln umwandeln (Lit.<sup>32</sup>): 80°.

$C_{11}H_9NO_4$  (219.2) Ber. C 60.27 H 4.14 N 6.32 Gef. C 60.47 H 4.20 N 6.44

*Phthalyl-glycin*<sup>33</sup>: Aus *Glycin* und *Phthalsäure-anhydrid*. Ausb. 92% d. Th. Schmp. 191 bis 192°.

*Phthalyl-DL-alanin*<sup>34</sup>: Aus *DL-Alanin* und *Phthalsäure-anhydrid*. Ausb. 90% d. Th. Schmp. 163°.

*Phthalyl-β-alanin*<sup>19</sup>: Aus *β-Alanin* und *Phthalsäure-anhydrid*. Ausb. 93% d. Th. Schmp. 152°.

*Phthalyl-L-valin*: Aus *L-Valin* und *N*-Carbäthoxy-phthalimid analog der Darstellung des *Phthalyl-glycins*<sup>32</sup>. Ausb. 85% d. Th., Schmp. 115° (aus Äther/Petroläther);  $[\alpha]_D^{20}$ : –67.1° ( $c = 0.5$ , in Äthanol). [Lit.<sup>35</sup>]: Schmp. 114–115°,  $[\alpha]_D^{20}$ : –68.5 ± 1° (in absol. Äthanol)].

*Phthalyl-glycyl-glycin*: 13.2 g *Glycyl-glycin* werden mit 14.8 g *Phthalsäure-anhydrid* bei 160–170° im Ölbad zusammengeschmolzen. Die spröde Schmelze wird mit 25 ccm Dimethylformamid versetzt und 1 Stde. unter Rückfluß erhitzt. Die heiße Lösung wird in 1 l heißes Wasser gegossen. Nach dem Erkalten wird abgesaugt und gut mit Wasser gewaschen. Ausb. 24.4 g (93% d. Th.) Nadeln. Schmp. 232–233° (Lit.<sup>34</sup>): 229–231°.

*Phthalyl-DL-valyl-glycin*: Eine Mischung von *DL-Valyl-glycin*<sup>36</sup> und *Phthalsäureanhydrid* wird bei 160–170° im Ölbad 20–30 Min. zusammengeschmolzen. Die Schmelze wird in Wasser gegossen, abgesaugt und aus heißem Wasser umkristallisiert. Ausb. 85% d. Th. Nadeln, Schmp. 230–231°.

$C_{15}H_{16}N_2O_5$  (304.3) Ber. C 59.21 H 5.30 N 9.21 Gef. C 59.05 H 5.51 N 9.46

#### 2. Säurechloride der Phthalylverbindungen

*Phthalyl-glycin-chlorid*<sup>34</sup>: Aus *Phthalyl-glycin* und einem Überschuß an *Thionylchlorid* in Benzol bei 60°; Schmp. 85° (aus Benzol/Äther). Ausb. 93% d. Th.

*Phthalyl-DL-alanin-chlorid*: Aus *Phthalyl-DL-alanin* und *Thionylchlorid* in Benzol bei 60°. Schmp. 73°, aus Benzol/Äther (Lit.<sup>37</sup>): 70–73°. Ausb. 90% d. Th.

<sup>31</sup>) D. THEODOROPOULOS und L. C. CRAIG, J. org. Chemistry **20**, 1169 [1955].

<sup>32</sup>) G. H. NEFKENS, G. J. TESSAR und R. J. F. NIVARD, Recueil Trav. chim. Pays-Bas **79**, 688 [1960].

<sup>33</sup>) E. DRECHSEL, J. prakt. Chem. [2] **27**, 418 [1883].

<sup>34</sup>) J. C. SHEEHAN und V. S. FRANK, J. Amer. chem. Soc. **71**, 1856 [1949].

<sup>35</sup>) M. FLING, F. N. MINARD und S. W. FOX, J. Amer. chem. Soc. **69**, 2466 [1947].

<sup>36</sup>) E. FISCHER und J. SCHENKEL, Liebigs Ann. Chem. **354**, 12 [1907].

<sup>37</sup>) K. YAMASHITA, H. WAKAMATSU und Y. SAHASHI, J. agric. chem. Soc. Japan **27**, 649 [1953]; C. A. **49**, 7526 f [1955].

*Phthalyl-β-alanin-chlorid*<sup>38)</sup>: Aus *Phthalyl-β-alanin* und  $PCl_5$  in Benzol. Ausb. 85% d. Th. Schmp. 100–102°.

*Phthalyl-L-valin-chlorid*: *Phthalyl-L-valin* wird mit einem Überschuß an *Thionylchlorid* übergossen und gerührt. Nach völliger Lösung und Nachlassen der HCl-Entwicklung wird i. Vak. eingedampft, danach noch 2mal mit absol. Chloroform. Das Öl wird aus Äther/Petroläther kristallin erhalten und nochmals daraus umkristallisiert. Ausb. 92% d. Th. Nadeln. Schmp. 118–119°.

$C_{13}H_{12}ClNO_3$  (265.7) Ber. C 58.77 H 4.55 Gef. C 58.78 H 4.48

*Phthalyl-glycyl-glycin-chlorid*: *Phthalyl-glycyl-glycin* wird bei 50° solange mit *Thionylchlorid* gerührt, bis sich fast alles gelöst hat. Die Lösung wird unter Feuchtigkeitsausschluß filtriert, i. Vak. eingedampft und die Destillation mehrmals mit absol. Chloroform wiederholt. In fast quantitativer Ausbeute bleibt ein hygroskopisches Öl zurück.

3. *Allgemeine Darstellung der Peptide*: Analog der Carnosin-Synthese<sup>19)</sup> läßt man bei –10° eine Lösung von 20–22 mMol *Phthalylaminosäure-chlorid* in 25 ccm Dioxan langsam unter gutem Rühren einer Lösung von 4.2 g (20 mMol) *Histidin-hydrochlorid* in 25 ccm Wasser und 2.9 ccm Triäthylamin zutropfen. Wenn die Hälfte der Lösung zugegeben ist, werden noch 2.9 ccm Triäthylamin zugefügt und hierauf die restliche Hälfte. Die Aufarbeitung erfolgt wie angegeben. Die Phthalylgruppen werden mit Hydrazinhydrat in Wasser/Alkohol unter Rühren abgespalten.

#### *Glycyl-L-histidin*

14a. *Phthalyl-glycyl-L-histidin*: Aus *Phthalyl-glycin-chlorid* und *L-Histidin·HCl*. Umkristallisiert aus Wasser/Propanol-(1). Ausb. 55% d. Th., Schmp. 258–262° (Zers.) (Lit.<sup>19)</sup>: 258–262°).

14b. *Glycyl-L-histidin*: Aus dem Phthalylderivat mit Hydrazinhydrat. Ausb. 60% d. Th. Schmp. 170–175° (Lit.<sup>19)</sup>: 175–176°).

#### *β-Alanyl-L-histidin*

15a. *Phthalyl-β-alanyl-L-histidin*: Aus *Phthalyl-β-alanin-chlorid* und *L-Histidin·HCl*. Ausb. 69% d. Th.; Schmp. 221–224° (Zers.) (Lit.<sup>19)</sup>: 221–224°).

15b. *β-Alanyl-L-histidin*: Mit Hydrazinhydrat aus dem Phthalylderivat (15a). Ausb. 85% d. Th. Nadeln. Schmp. 260–262° (Zers.),  $[\alpha]_D^{20}$ : +21.9° ( $c = 1$ , in Wasser) [Lit.: Schmp. 253–256° (Zers.),  $[\alpha]_D^{25}$ : +21.7° ( $c = 1.1$ , in Wasser)<sup>19)</sup>; Schmp. 260°,  $[\alpha]_D^{25}$ : +20.5° ( $c = 2$ , in Wasser)<sup>39)</sup>].

$C_9H_{14}N_4O_3$  (226.2) Ber. N 24.77 Gef. N 24.90

#### *DL-Alanyl-DL-histidin*

16a. *Phthalyl-DL-alanyl-DL-histidin*: Aus *Phthalyl-DL-alanin-chlorid* und *DL-Histidin·HCl*. Man kristallisiert aus 50-proz. Äthanol um und sublimiert i. Vak.; Ausb. 35% d. Th., Schmp. 229–231° (Zers.). Schwerlöslich in Wasser und Äthanol.

$C_{17}H_{16}N_4O_5 \cdot H_2O$  (374.4) Ber. C 54.54 H 4.74 N 14.97 Gef. C 54.28 H 5.01 N 15.15

16b. *DL-Alanyl-DL-histidin*: Aus dem Phthalylpeptid mit Hydrazinhydrat. Das hygroskopische Öl wird durch mehrmaliges Eindampfen mit Äthanol, Umkristallisieren aus wasserhaltigem Äthanol/Äther und Trocknen i. Vak. bei 70° über  $P_2O_5$  fest und kristallin. Ausb. 87% d. Th., Schmp. 198–202° (Zers.).

$C_9H_{14}N_4O_3 \cdot H_2O$  (244.3) Ber. N 22.94 Gef. N 22.90

17a. *Phthalyl-glycyl-glycyl-L-histidin*: Aus *Phthalyl-glycyl-glycin-chlorid* und *L-Histidin·HCl*. Das gefärbte Reaktionsprodukt wird in Propanol-(1)/Wasser (1:1) mit A-Kohle und Wofatit

<sup>38)</sup> H. KROLL und H. HOBERMAN, J. Amer. chem. Soc. **75**, 2511 [1953].

<sup>39)</sup> R. H. SIFFERD und V. DU VIGNEAUD, J. biol. Chemistry **108**, 753 [1935].

E geklärt und gereinigt. Nach Eindampfen i. Vak. wird der Rückstand mit heißem Propanol-(1) extrahiert. Nach Zugabe von Äther fällt ein farbloses Produkt aus, das aus Propanol-(1)/Äther umkristallisiert wird. Ausb. 52% d. Th. Nadeln. Schmp. 228–233° (Zers.).

$C_{18}H_{17}N_5O_6 \cdot H_2O$  (417.4) Ber. C 51.80 H 4.38 N 16.78 Gef. C 51.64 H 4.70 N 16.85

17b. *Glycyl-glycyl-L-histidin*: Vorstehende Verbindung wird mit einem Überschuß an Hydrazinhydrat über Nacht stehengelassen. Nach Zugabe von Äthanol wird noch 1 Stde. unter Rückfluß erhitzt. Man dampft i. Vak. ein und kristallisiert aus Propanol-(1)/Äther um. Ausb. 85% d. Th., Schmp. unscharf bei 100°.

$C_{10}H_{15}N_5O_4 \cdot N_2H_4$  (301.3) Ber. N 32.54 Gef. N 32.50

ERNST BIEKERT, DIETER HOFFMANN und LORE ENSLEIN

Über 1.4-Oxazine, IV<sup>1)</sup>

### Kondensation von 1.2-Amino-alkoholen mit $\alpha$ -Ketocarbonsäure-estern zu 5.6-Dihydro-1.4-oxazinonen-(2)

Aus dem Max-Planck-Institut für Biochemie, München

(Eingegangen am 15. April 1961)

Aus 1.2-Amino-alkoholen und  $\alpha$ -Ketoestern entstehen unter Wasser- und Alkoholabspaltung Derivate des bisher nicht beschriebenen 5.6-Dihydro-1.4-oxazinons-(2). Um die Bildung von Amidn zu vermeiden, werden die Kondensationen unter Zusatz von Eisessig durchgeführt. Die Dihydro-oxazinone lassen sich alkalisch unter Regeneration der eingesetzten Aminoalkohole spalten, wobei Synthese und Spaltung bei optisch aktiven Aminoalkoholen ohne Konfigurationsänderung erfolgen.

Wie wir in den vorhergehenden Mitteilungen dieser Reihe zeigen konnten<sup>2)</sup>, bilden sich bei der Umsetzung von *o*-Aminophenolen mit  $\alpha$ -Ketoestern unter Abspaltung von Wasser und Alkohol 1.4-Benzoxazinone-(2) in meist hohen Ausbeuten. Diese sehr gut kristallisierenden Verbindungen können sowohl zur Charakterisierung von  $\alpha$ -Ketoestern als auch zur Charakterisierung von *o*-Aminophenolen verwendet werden<sup>3)</sup> und lassen sich reduktiv in Morpholone und *N*-substituierte Aminoalkohole überführen<sup>2)</sup>. Im folgenden soll mitgeteilt werden, daß sich, ähnlich wie *o*-Aminophenole, auch 1.2-Amino-alkohole mit  $\alpha$ -Ketoestern unter Wasser- und Alkoholabspaltung umsetzen<sup>4)</sup>. Damit wird der Anwendungsbereich dieser „Ketoesterkondensation“ beträchtlich erweitert.

<sup>1)</sup> III. Mittel.: E. BIEKERT und L. ENSLEIN, Chem. Ber. 94, 1851 [1961].

<sup>2)</sup> I. und II. Mittel.: E. BIEKERT, D. HOFFMANN und F. J. MEYER, Chem. Ber. 94, 1664, 1676 [1961].

<sup>3)</sup> A. BUTENANDT, E. BIEKERT, M. DÄUBLE und K. H. KÖHRMANN, Chem. Ber. 92, 2172 [1959].

<sup>4)</sup> Vgl. E. BIEKERT, Angew. Chem. 71, 375 [1959].